

[J]. 色谱, 1997, 15(3):263.

[J]. 分析化学研究报告, 1998, 26(9):1056.

[21] 王静馨. 模式识别法用于反相液相色谱等度分离条件优化

收稿日期: 2003-10-28

中药色谱指纹图谱研究进展

黄 晟, 谷 莉, 黄河舟, 柴逸峰(第二军医大学药学院, 上海市 200433)

摘要 目的:介绍中药色谱指纹图谱的研究进展。方法:查阅国内外相关文献资料,综述了近年来一些常用的色谱分析技术在中药指纹图谱研究中的应用现状及研究进展,并展望了中药色谱指纹图谱在中药质量控制领域的应用前景。结果:中药色谱指纹图谱具有系统性、整体性、特征性等特点,越来越多的应用于中药的鉴别和质量控制当中。结论:中药色谱指纹图谱在中药质量控制领域具有广阔的开发和应用前景。对于中药现代化具有重要的意义。

关键词 中药; 指纹图谱; 色谱; 研究进展

中图分类号: R917

文献标识码: B

文章编号: 1006-0111(2003)06-0326-04

中药作为我国的国粹,有着几千年的悠久历史,一直是医药工作者研究的重点。由于中药是一个混合的复杂体系,其成分众多,加上药材品种、产地、加工方法、贮藏条件等因素的影响,其质量控制也成为医药工作者研究的难点,这也成为中药现代化进程中急需解决的关键问题。虽然,目前对大多数中药的有效成分以及药理作用机制并不明确,尚有许多争议。但有一点基本上得到了公认,即中药的药效是多种成分共同作用的结果,具有整体性。那么,对中药的质量控制也应体现其整体性,如果只对其中少数已知成分作质量控制是不合理的,这样就会遗失其它大量的有用信息。中药指纹图谱技术就是在这样的情况下应运而生的,它是建立一类中药材或中成药中所共有的、具有特异性的某类或数类活性成分的色谱或光谱信息的图谱,具有系统性、整体性、特征性等特点。本文就中药色谱指纹图谱研究现状和进展作一综述。

1 中药指纹图谱的概念

中药指纹图谱的“指纹”概念来源于法医学,但又与法医学中的指纹分析不太一样,法医学中是指个体指纹的绝对唯一性,而中药指纹图谱则是指同种中药材内在成分的整体相似性^[1]。中药绝大多数来源于各种生物,其同一物种由于基因的唯一性和遗传性因而具有相似性,其体内化学成分虽然因生长环境和生长年限等各种因素的影响产生个体间较为明显的差异,但其代谢也具有遗传性,因此在化

学成分上也具有相似性。这也是中药指纹图谱分析的依据。

中药色谱指纹图谱是指采用色谱方法以及其它联用技术建立的同种中药材或制剂所共有的具有特异性的组分群体(某类或数类成分)的特征图谱或图象^[2]。它是一种综合的、可以量化的色谱测定手段,可以对中药材或制剂进行定性和定量的研究,用来评价和控制中药质量。

2 中药色谱指纹图谱研究现状

中药色谱指纹图谱的研究国外早已开展,德国对银杏进行了指纹图谱研究,测定了银杏提取物中33个银杏黄酮的含量,并且通过使用指纹图谱控制其成分和相对含量,成功的对有效成分含量与药理学相关性进行了研究,发现约24%的银杏黄酮和约6%的银杏内酯组成的银杏提取物具有最好的疗效,这一研究成果极大的推动了中药色谱指纹图谱的研究和发展,也引起国内医药研究工作者的极大重视,国家药品监督管理局于2000年颁布了《中药注射剂指纹图谱研究的技术要求(暂行)》,规范了对中药指纹图谱的研究,促进了国内学者对中药指纹图谱的研究热潮。

目前,我国对中药色谱指纹图谱的研究基本上还处在初级阶段,即使用各种方法建立中药材及制剂的指纹图谱,以及对相应信息进行数字化处理,使其能评价和控制中药材及制剂的质量,也就是构建中药质量控制的一种模式。在这方面已经取得了不少成绩,但与国外的研究相比,尚有不小差距。国外许多研究机构对中药指纹图谱的研究已进入高级阶

段,建立指纹图谱与药效的相关性研究,以及对中药理论和新药开发的研究体系和模式。

3 研究对象

目前国内对中药指纹图谱研究应用的对象很广

泛,包括了动物药材和植物药材很多种类以及各种中成药制剂,笔者对近几年国内在中药指纹图谱研究中的研究对象作了一个简要总结,见表 1。

表 1 国内近几年中药色谱指纹图谱研究的对象及方法

类别	成分	药材或制剂	方法
黄酮类 ^[3-8]	黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素、野黄芩苷、甘草素、异黄酮、黄酮苷、高良姜素、山奈素等	黄芩、灯盏花素注射液、甘草、红车轴草、红花、银杏、高良姜等	HPLC - DAD HPLC - MS TLC
挥发油类 ^[9-16]	广藿香酮、降香油、桂皮醛、细辛醚、甲基正壬酮等	广藿香、石牌藿香、连翘、郁金、地黄、降香、肉桂、石菖蒲、水菖蒲、鱼腥草注射液等	GC - MS GC - FID
有机酸类 ^[17-20]	绿原酸、丹参素、三萜酸等	通关藤注射液、刺五加、丹参及丹参注射液、茯苓等	HPLC - DAD HPLC - UV - MS
皂苷类 ^[21-25]	黄芪甲苷、丁香苷、地榆皂苷、三七总皂苷、芍药总苷等	黄芪、刺五加、地榆、三七及其制剂、芍药等	HPLC - UV - MS、 HPLC - UV
萘醌类 ^[26]	大黄素、大黄酸等	掌叶大黄等	HPLC - DAD

4 研究方法

常用的色谱方法在中药指纹图谱研究中都有很好的应用,主要有薄层色谱(TLC)指纹图谱、高效液相色谱(HPLC)指纹图谱、气相色谱(GC)指纹图谱、高效毛细管电泳(HPCE)指纹图谱、高速逆流色谱(HSCCC)指纹图谱。

4.1 薄层(TLC)指纹图谱 TLC在色谱方法中相对是最易开展的方法,具有操作简便,快速,经济等特点,通过荧光显色或使用显色剂,可以提供直观形象的图案,易于比较。在此基础上又发展了薄层扫描法,以及其它和计算机联用的技术。在中药色谱指纹图谱中有着广泛的应用。

聂孝平等^[27]用薄层色谱全程扫描的方法建立克瘾宁胶囊制剂的薄层指纹图谱,通过与延胡索药材、夏天无药材薄层指纹图谱对比,确定制剂薄层指纹图谱中延胡索和夏天无各自的特征峰归属,以特征峰有无来鉴别延胡索、夏天无。李彩君等人^[8]对高良姜的黄酮类成分进行了 TLC 指纹图谱研究。用高良姜素、山奈素等 8 个特征荧光斑点构成了高良姜乙酸乙酯提取部分的指纹图谱。罗敏等^[28]对五种蛇胆的薄层图进行色谱扫描,获得其指纹图谱,并对其指纹峰进行了特征性研究。

4.2 高效液相色谱(HPLC)指纹图谱 HPLC在色谱方法中是使用相当广泛的一种方法,具有分离效率高、分离速度快、重现性好、应用范围广等特点。也是目前在中药指纹图谱研究中应用最多的方法。其分离原理使其非常适合分析中药这种混合的复杂

体系,并且通过与不同性能的检测器联用,可以有针对性的检测分析中药中不同的化学成分。

周玉新等^[24]应用 HPLC - DAD 对三七药材、提取物及其注射液的皂苷类成分进行指纹图谱研究,获得三七药材、提取物及其注射液的具有专属性的三维指纹图谱。翟为民等^[23]应用 HPLC - DAD 对人参、西洋参和三七参进行了指纹图谱研究,采用梯度洗脱分离分析了其皂苷成分,可以有效的鉴别人参、西洋参和三七参。张尊建等^[18]采用 HPLC - UV - MS 法对丹参药材、丹参注射液中间体及丹参注射液进行指纹图谱的研究。采用梯度洗脱系统,紫外检测,MS 记录总离子流(TIC)色谱图,得到分离度较好的丹参药材、中间体及注射液的 HPLC - UV 及 HPLC - MS 指纹图谱。为丹参药材、中间体及注射液的质量控制提供全面、可靠的依据。

4.3 气相色谱(GC)指纹图谱 GC 主要适用于易挥发性化学成分的分析。在中药中,有许多是含有挥发油成分的,GC 特别适合这种挥发油成分的测定和分析。在具体使用时,多与质谱检测器(MS)联用,方法灵敏,分析速度快,在指纹图谱的研究中也有很好的应用。

魏刚等^[9]建立了广藿香挥发油的 GC - MS 指纹图谱,初步拟定了藿香挥发油特征指纹图谱指标成分群,并对不同采集期藿香,以及同基地栽培的高要、湛江藿香挥发油进行主成分比较分析,为阐明藿香药材道地性打下了基础。袁敏等^[13]采用 GC - FID 方法测定的不同产地连翘挥发油的指纹图谱,

采用模糊聚类法进行分析比较,全面、综合、准确地反映不同产地药材指纹图谱的关系,适用于连翘的质量控制。钱浩泉等^[10]用 GC-MS 方法建立了高良姜挥发油指纹图谱,对道地药材及不同产地收集的市售药材进行了鉴别,其指纹图谱与混淆品有明显区别。

4.4 高效毛细管电泳(HPCE)指纹图谱 HPCE 是一类比较新的液相分离分析技术,综合了电泳和色谱的一些特点,因此其分析对象也十分广泛,包括了从小的无机离子到大的蛋白质和高分子聚合物等。具有分离效能高,分析速度快,消耗低,环保等特点。目前,HPCE 已在中草药中生物碱广泛应用,黄酮,黄酮苷,酚酸,香豆素,酮类,强心苷,皂苷,葡萄糖异硫氰酸盐等成分。在中药指纹图谱研究领域,HPCE 具有很大的潜力,有望成为 HPLC 等常规色谱分析方法之外一个有益的补充。

邢旺兴等^[29]采用毛细管区带电泳法对中药红曲基原真菌进行了研究,发现不同种红曲霉胞内或胞外水溶性蛋白质的成分和含量差异显著,根据红曲霉胞内或胞外水溶性蛋白质 4~10 分钟区间内的指纹图谱及这些特征峰的相对含量,可以有效地鉴别红曲霉属真菌,结果与形态学以反扫描电镜测结果一致。张朝晖等^[30]采用 HPCE 法对 12 种海马、海龙类药材进行鉴别,建立其特征图谱,其种间差异明显,可以作为鉴别依据,且分析速度快、分辨力强、重现性好。

4.5 高速逆流色谱(HSCCC)指纹图谱 HSCCC 是一类新的液液萃取分离技术,由于该技术是应用动态的液-液分配原理,因此无常用柱色谱的一些固体载体不可逆吸附作用,具有分离效能高,溶剂用量少,应用范围广,样品无须作太多的预处理即可上柱等特点,其分离度与重现性与 HPLC 法相似,已引起研究者越来越多的关注。目前,在国内 HSCCC 应用于中草药分离分析还处在起步阶段,国外已有报导应用于包括生物碱类、黄酮类、萜醌类、木脂素类、肽类和蛋白质等各类化合物的分析。可以说,在中药指纹图谱分析领域,HSCCC 的应用前景是广阔和良好的。

4.6 色谱联用技术指纹图谱 中药作为一个混合的复杂体系,其成分极多,且理化性质各不相同。而常用的色谱技术的分离原理都是基于分离对象的理化性质的,因此,往往单用一种色谱方法或条件无法全面准确的反映出中药的内在质量。据此,罗国安提出“多维多息”概念,即采用多种分析仪器联用的

模式来测定指纹图谱,综合各谱图的信息,可以对分析对象有一个更全面、更准确的认识^[31]。目前,在实际工作中,常用的联用技术有高效液相色谱(或毛细管电泳)二极管阵列检测器/质谱/质谱联用方式(HPLC 或 CE/DAD/MS/MS)。

5 指纹图谱指标参数及评价标准

对得到的指纹图谱信息进行科学准确的分析,最大限度的获取其中有用信息,这也是指纹图谱研究工作当中非常重要的一个环节。目前,在指纹图谱研究中,对指标参数的设置以及评价标准还很不统一。使用比较多的是直接对比法,即将待测样品的图谱与标准图谱进行直接比较,可以鉴定判别药材真伪。但这种方法缺乏量化的数据和统一的标准,不利于中药指纹图谱的推广应用及规范化。因此,有学者在此基础上提出了各种观点和方法建立指纹图谱的指标参数和评价标准,如相对指数,重叠数,八强峰,N 强峰,表观丰度等^[32],用量化的数据进行比较,更加合理,客观。除此之外,对各种计算机图谱解析技术以及化学计量学的研究也成为热点。例如采用模糊信息分析法,人工神经网络法,灰色关联聚类法,化学模式识别法等方法对得到的指纹图谱进行解析,建立相似度计算判别软件进行判别分析。充分挖掘利用图谱提供的有用信息,使分析的结果更加准确科学,使指纹图谱研究工作更加规范,有利于指纹图谱的推广应用。这也日益成为指纹图谱研究中的一个研究重点。

6 结论和展望

中药色谱指纹图谱能全面的反映中药的整体化学特征,体现其内在的整体质量,可以弥补过去对中药质量控制中只对少数成分控制质量的弊端,是一种更为合理的中药质量控制模式。其独特的优势已得到了越来越多的认可,美国 FDA 在植物药制品指导原则(征求意见稿)中允许申报者提供产品色谱指纹图谱资料,此外,英国草药典、加拿大药用及芳香植物学会、德国药用植物学会、印度草药典也都接受色谱指纹图谱。这也充分说明了在中药质控领域,中药色谱指纹图谱具有非常好的应用前景。

除了继续完善现有色谱分析技术的应用,一些联用技术也越来越引起研究者的重视,包括色谱和光谱的联用。如何更加充分的利用现有的分析技术,采用多种方法建立中药多维的指纹图谱,再结合先进的计算机谱解析技术以及化学计量学研究,更多的挖掘分析图谱信息,全面准确的反映中药的内在质量,这对中药材 GAP 基地建设、选择优良种质

资源和药材道地性研究极为有用,从而真正实现对中药质量整体的评价和控制,保证临床用药安全有效,这应该是现阶段的研究重点。在此研究基础上,再开展中药指纹图谱和药效学相关性研究,这对中药理论的基础研究和新药开发是一种崭新的模式,具有十分广阔的应用前景。

参考文献:

- [1] 郑颖,吴凤愕 中药指纹图谱的研究进展[J]. 天然产物研究与开发,2003,15(1):55.
- [2] 何文斐,李士敏 中药色谱指纹图谱的研究进展[J]. 时珍国医国药,2003,14(4):238.
- [3] 张旭,耿伯显,陈玲玲,等. 灯盏花 HPLC 指纹图谱的研究[J]. 中国医药工业杂志,2003,34(6):270.
- [4] 张世轩,牛玉娟,吕浩然,等. HPLC 法测定灯盏花素注射液中野黄芩苷[J]. 中成药,2002,24(2):95.
- [5] 徐艳春,魏璐雪,周玉新,等. 红车轴草中异黄酮的指纹图谱研究[J]. 中国中药杂志,2002,27(3):196.
- [6] 周晓英,张立新,张良,等. 红花的 HPLC 指纹图谱分析方法研究[J]. 中成药,2002,24(5):325.
- [7] 游松,王亮,蒋雅红,等. 银杏叶注射剂指纹图谱的研究[J]. 中草药,2002,33(3):216.
- [8] 李彩君,林巧玲,谢培山,等. 高良姜中黄酮类成分薄层色谱指纹图谱鉴别[J]. 中药新药与临床药理,2001,12(3):183.
- [9] 魏刚,李巍,徐鸿华. GC-MS 建立石牌广藿香挥发油指纹图谱方法学研究[J]. 中成药,2003,25(2):91.
- [10] 钱浩泉,李彩君,谢培山 高良姜及其近缘植物挥发油成分的气相色谱指纹图谱研究[J]. 中药新药与临床药理,2001,12(3):179.
- [11] 赵陆华,刘艳华,张同,等. 降香药材 CC 指纹图谱的建立[J]. 中成药,2002,24(11):825.
- [12] 宋晓涛,赵颖,张文生,等. 降香药材及其制剂指纹图谱研究[J]. 天津中医药,2003,20(1):51.
- [13] 袁敏,曾志,宋力飞,等. 气相色谱指纹图谱用于连翘的质量控制[J]. 分析化学研究简报,2003,31(4):455.
- [14] 张海霞,陈建伟,吴志平. 肉桂及其混伪品的 HSGC-MS 的实验比较研究[J]. 中草药,2003,34(1):76.
- [15] 唐洪梅. 石菖蒲与水菖蒲挥发油的指纹图谱分析[J]. 中药研究,2002,18(3):43.
- [16] 李秀珍,高海,刘海静. 鱼腥草注射液指纹图谱分析方法的研究[J]. 西北药学杂志,2002,17(4):154.
- [17] 刘艳华,赵陆华,黄剑,等. 丹参 HPLC 指纹图谱的研究[J]. 中国药科大学学报,2002,33(2):127.
- [18] 张尊建,李茜,王伟,等. 丹参及丹参注射液指纹图谱的 HPLC-MS 研究[J]. 中草药,2002,33(12):1074.
- [19] 余静,李茜,沈文斌,等. 刺五加 HPLC/UV/MS 指纹图谱研究[J]. 中国药科大学学报,2003,34(2):148.
- [20] 丁岗,王振中,章晨峰,等. 茯苓中三萜酸类成分 HPLC 指纹图谱的初步研究[J]. 中国中药杂志,2002,27(10):756.
- [21] 徐青,王加宁,肖红斌,等. 黄芪药材的指纹图谱研究方法的建立[J]. 分析测试学报,2002,21(2):89.
- [22] 沙明,张东方,孟宪生,等. DNA 指纹谱与 HPLC 指纹谱对中药地榆质量评价研究[J]. 中国药学杂志,2002,37(11):815.
- [23] 翟为民,袁永生,周玉新,等. 人参、西洋参及三七参指纹图谱鉴别[J]. 中国中药杂志,2001,26(7):481.
- [24] 周玉新,袁永生,高霞,等. 三七药材及其制剂指纹图谱研究[J]. 中国中药杂志,2001,26(2):122.
- [25] 邹忠梅,徐丽珍,杨世林,等. 芍药总苷高效液相色谱指纹图谱研究[J]. 药学报,2003,38(1):46.
- [26] 陈斌,蔡宝昌,潘扬,等. 不同产地掌叶大黄 HPLC 指纹图谱的比较[J]. 中草药,2003,34(5):457.
- [27] 聂孝平,向大雄,李焕德,等. 薄层扫描指纹图谱法对克霉宁胶囊中延胡索和夏天无的鉴别[J]. 湖南中医学院学报,2002,22(1):34.
- [28] 罗敏,霍永昌,魏献春. 五种蛇胆的薄层色谱扫描指纹图谱研究[J]. 中药材,2002,25(1):16.
- [29] 邢旺兴. 中药红曲基原真菌的高效毛细管电泳法鉴别[J]. 第二军医大学学报,2000,21(1):59.
- [30] 张朝辉. 12 种海马、海龙药材高效毛细管电泳法鉴别[J]. 中国中药杂志,1998,23(5):259.
- [31] 罗国安,王义明. 中药指纹图谱的分类和发展[J]. 中国新药杂志,2002,11(1):46.
- [32] 宋国跃,尹小英,罗永明. 中药指纹图谱的研究进展[J]. 江西中医药,2002,33(6):49.

收稿日期:2003-10-28

中药指纹图谱数据库的意义和现状

乔善磊,朱臻宇,柴逸峰,王建军(第二军医大学药学院,上海 200433)

摘要 目的:探讨中药指纹图谱共享数据库的目的和意义。方法:检索国内文献资料并进行分析。结果:中药指纹图谱技术被认为是中药质量控制现代化的一种有效解决方案。中药指纹图谱技术的发展和完善是一个长期的过程,需要大量的资料和经验的积累,合理的保存和管理这些信息,必然对指纹图谱技术的发展产生巨大的推动作用。结论:中药指纹图谱数据库的研究已经滞后于中药指纹图谱技术的发展,应当加大中药

基金项目:上海市科技发展基金项目(01DJ19012)

指纹图谱共享数据库的研究力度。